

# Etude des lipides foliaires d'un palmier à huile

## *Elaeis melanococca* × *Elaeis guineensis*

J. GRAILLE (1), E. BIAN N'ZIE (1), M. PINA (1), C. FRATER (1) et B. KOUAMÉ (2)

**Résumé.** — Un temps relativement long sépare la jeune plantule de l'arbre en production chez le palmier à huile. Il serait par suite intéressant de définir une relation mathématique entre la composition en acides gras d'une ou plusieurs espèces moléculaires des lipides de réserve contenues dans les feuilles des palmiers à huile et celle des acides gras constitutifs de l'huile de palme de l'arbre en production. Il serait ainsi possible, par une simple analyse d'une aliquote foliaire, de prévoir la composition de l'huile de l'arbre en production. Ce test permettrait aux sélectionneurs, même si la relation n'est vérifiée que dans 70 % des cas, d'éliminer en pépinière un certain nombre de plantules indésirables. Les sélectionneurs et généticiens gagneraient ainsi un temps précieux. Dans une première phase les auteurs ont tout d'abord défini une méthode reproductible et répétable d'extraction des lipides totaux, de leur fractionnement par diverses techniques chromatographiques, de séparation quantitative et enfin d'analyse des acides gras constitutifs des espèces lipidiques séparées.

### INTRODUCTION

Chez les plantes pérennes en général, et plus particulièrement pour certaines, un temps relativement long sépare les jeunes plantules des arbres en production.

Chez le palmier à huile cette période est de 5 ans.

Les sélectionneurs et généticiens de l'I.R.H.O. s'efforcent depuis de nombreuses années de sélectionner des espèces de palmiers à huile produisant une huile de palme de plus en plus insaturée.

Les résultats des sélections ne peuvent malheureusement être connus que lorsque l'arbre est en production.

Il est évident que si au stade plantule un test quelconque pouvait renseigner les sélectionneurs sur la composition future de l'huile que produiraient les arbres correspondant aux plantules en pépinière, il serait alors aisé d'éliminer les spécimens indésirables dès le plus jeune âge des plants. Un temps précieux serait alors gagné.

Nous nous sommes donné l'hypothèse de travail suivant laquelle le problème pourrait être résolu au niveau des lipides foliaires.

Les lipides foliaires de nombreux végétaux ont été étudiés. Il ressort de ces études, une certaine similitude car ils se composent toujours de trois classes principales :

- les lipides neutres,
- les galactolipides,
- les phospholipides.

De plus, parmi les acides gras qui les composent on retrouve presque toujours en quantité prédominante par rapport aux intermédiaires métaboliques, la dizaine d'acides gras les plus répandus dans la nature et notamment les acides :

- |                        |                      |
|------------------------|----------------------|
| C16:0 — palmitique,    | C18:1 — oléique,     |
| C16:1 — palmitoléique, | C18:2 — linoléique,  |
| C18:0 — stéarique,     | C18:3 — linolénique. |

De nombreux travaux ont été consacrés à l'étude des lipides foliaires de diverses plantes parmi lesquelles nous citerons :

- l'épinard par Wintermans, 1960 [1] ; Zill et Harmon, 1960 [2] ; Nichols, 1963 [3] ; Allen *et al.*, 1966 [4] ; Haverkates et Van Deenen, 1965 [5] ; Holloway, 1974 [6] ;
- le haricot par Kates et Eberhardt, 1957 [7] ; Sastry et Kates, 1964 [8] ; Maxwell et Williams, 1968 [9] ;
- le trèfle par Weenink, 1962 [10] ; Roughan et Batt, 1969 [11] ; Trémolières, 1969 [12] ; Trémolières et Mazliak, 1970 [13] ; Body, 1974 [14] ;
- le ricin par James et Nichols, 1966 [15] ;
- le tabac par Chü et Tso, 1968 [16] ; Kimland, 1972 [17] et Schlotzhauer *et al.*, 1976 [18] ;
- la laitue par Stumpf et James, 1963 [19] ;
- le pois par Kolattukudy, 1969 [20] ;
- le lierre par Astier, 1971 [21] ;
- les Caryophyllacées (10 espèces) et certains conifères par Jamieson et Reid, 1971 [22], 1972 [23] ;
- le chou par Wheelton, 1960 [24] ; Nichols, 1963 [3] ; Vorbeck *et al.*, 1963 [25] ; Laseter *et al.*, 1968 [26] ; Peng, 1973 [27] ;
- les orchidées par Ralph *et al.*, 1972 [28] ;
- le tournesol par Miernyck, 1977 [29] ;
- le manioc par Khor *et al.*, 1979 [30], 1981 [31] ;
- le soja par Roughan *et al.*, 1978 [32] ; Ezzat *et al.*, 1980 [33] ;
- la fève par Nobashsher, 1977 [34] ;
- le colza par Von Diepenbrock, 1981 [35], 1982 [36].

Nous rappellerons également l'importante monographie de Trémolières [37] publiée en 1970 et faisant le point sur les multiples travaux effectués jusqu'alors sur la composition lipidique des tissus photosynthétiques, leur métabolisme et leur rôle possible dans les chloroplastes.

Il est bien connu que les glycolipides et les phospholipides sont principalement trouvés dans, respectivement, les chloroplastes et les microsomes. Ces organelles ont des fonctions bien précises dans la biosynthèse des acides gras du tissu photosynthétique et la composition en acides gras de ces deux classes de lipides est bien connue et est commune à tous les végétaux ; ainsi les glycolipides sont très riches en acide linolénique et les phospholipides en acide linoléique.

Pour ces raisons, il est vraisemblable que ces deux classes lipidiques ne nous apporteront aucune réponse.

En conséquence nous avons concentré nos efforts sur la

(1) Département Chimie des corps gras, Institut de Recherches pour les Huiles et Oléagineux, I.R.H.O.-GERDAT, B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex (France).

(2) Station de Recherche sur le palmier à huile, La Mé (Côte-d'Ivoire)

classe lipidique dite neutre qui comporte généralement des esters d'acides gras et de phytostérols, des glycérides, des acides gras libres et d'autres esters d'acides gras. Nous nous sommes donc efforcés de mettre au point une méthodologie permettant d'obtenir des extraits lipidiques foliaires quantitatifs, de fractionner puis d'analyser chaque espèce moléculaire de lipides neutres pour leur composition en acides gras.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Prélèvement et conditionnement des échantillons.

L'étude a été faite sur un hybride *E. melanococca* du Brésil  $\times$  *E. guineensis* de La Mé, sur la feuille 17 (couramment utilisée pour le diagnostic foliaire [38]), d'un arbre sain en production. On prélève le nombre de folioles centrales nécessaires pour constituer 25 échantillons de 20 g suivant le processus ci-après :

1) les folioles sont amenées entières au laboratoire de la station (La Mé, Côte-d'Ivoire) dans les délais les plus brefs en les protégeant du soleil dans un sac ;

2) toutes les opérations suivantes sont effectuées en chambre froide (4 à 5 °C) et sous une lumière à faible intensité pour limiter les phénomènes d'oxydation spontanée chimiques ou biochimiques dont on sait qu'ils sont favorisés par le rayonnement UV, la température et la surface élevée des blessures des folioles divisées ;

3) pour chaque foliole, on conserve les 20 cm médians et on élimine les bords marginaux et la nervure centrale [38]. Les segments ainsi obtenus sont nettoyés rapidement et soigneusement, sans les immerger, par de l'eau permutée puis distillée, avec un morceau de coton ;

4) les segments nettoyés sont découpés avec un scalpel en morceaux de 1 cm<sup>2</sup> maximum ;

5) les morceaux sont ensuite mélangés soigneusement par brassage, et on prélève 25 échantillons de 20 g chacun à 0,1 g près.

Les échantillons sont introduits au fur et à mesure de leur pesée dans des flacons d'environ 150 ml. On ajoute 70 ml de méthanol, les morceaux sont alors entièrement recouverts et le volume mort réduit au minimum. Les flacons sont fermés hermétiquement sous azote, puis expédiés immédiatement au laboratoire de Montpellier par avion. A réception, les flacons sont conservés à + 5 °C dans un réfrigérateur. Pour les études nécessitant des échantillons plus importants, on procédera de la même façon sur des échantillons de 200 g conditionnés dans des flacons de 1 250 ml contenant 700 ml de méthanol.

### Extraction des lipides.

Les lipides ont été extraits suivant la méthode de Folch (chloroforme/méthanol, 2/1 en volume) que nous avons adaptée à une extraction au Soxhlet après avoir vérifié que la composition du condensat est voisine de celle du ballon générateur.

Le contenu du flacon est transféré quantitativement dans la cellule de broyage adéquate d'un broyeur à couteaux rotatifs « omni-mixer Sorvall » en s'aidant de 140 ml de chloroforme. L'échantillon est broyé pendant 12 min. Le tout est ensuite filtré sur un entonnoir Büchner et le gâteau rincé par 40 ml de solvant de Folch. On obtient ainsi l'extrait I. Le gâteau est transféré quantitati-

vement dans une cartouche de Soxhlet (papier filtre compris). On place 150 ml de solvant de Folch dans le ballon générateur et on extrait pendant 8 h. On obtient ainsi l'extrait II. Les extraits I et II sont alors réunis, puis le solvant évaporé sous pression réduite à 40 °C et sous azote jusqu'à poids constant. L'extrait est ensuite repris par du chloroforme pour avoir une concentration de 12,5 %. Les extraits sont conservés sous azote au réfrigérateur à + 5 °C. On doit noter que ces extraits contiennent des impuretés en plus des lipides totaux. Elles sont éliminées par filtration et les dernières traces sont retenues irréversiblement sur la colonne de fractionnement.

### Fractionnement de l'extrait lipidique.

Ce fractionnement est effectué sur colonne d'acide silicique (Merck Art. 7734). 30 g de silice sont mis en suspension dans le solvant chloroforme/acétone, 90/10 en volume. La suspension est introduite dans une colonne de 30 cm de haut et 3 cm de diamètre intérieur tout en laissant le solvant s'écouler librement. Lorsque la silice ne descend plus, on ajoute une couche de 3 cm de sulfate de soude anhydre puis on fait affleurer le solvant au sommet de la couche. On applique alors 500 mg d'extrait au sommet de la colonne. On élue successivement les lipides neutres (LN) par 450 ml de chloroforme/acétone, 90/10 en volume, puis les glycolipides (GL) par 500 ml d'acétone/méthanol, 90/10 et les phospholipides (PL) par 650 ml de méthanol pur. Le solvant de chaque fraction est ensuite évaporé comme précédemment et les résidus pesés. Le poids des lipides totaux est obtenu en faisant la somme pondérale des trois fractions, ce qui permet de calculer la quantité réelle de lipides dans l'extrait.

### Chromatographie sur couche mince (CCM).

#### 1. — Analyse des lipides neutres.

Des plaques de gel de silice Merck sans indicateur de fluorescence prêtes à l'emploi ont été utilisées. La concentration de la solution est de 0,5 % dans le chloroforme ; on dépose 20 µl de cette solution soit 100 µg de soluté. Les solutés sont déposés automatiquement à l'aide du déposateur Linomat III Camag. Trois systèmes de solvant ont été utilisés de telle sorte que les pigments soient écartés de la zone de lecture et que les composés étudiés aient des R<sub>f</sub> compris entre 0,3 et 0,7. Des témoins purs Merck ou Sigma ont été utilisés. Les solvants sont les suivants :

— Cyclohexane/oxyde d'éthyle, 85/15 en volume  
pour les esters de phytostérols (R<sub>f</sub> = 0,70) (EPS)  
les esters méthyliques (R<sub>f</sub> = 0,63) (EM)  
les triglycérides (R<sub>f</sub> = 0,54) (Tri)

Les pigments restent au dépôt.

— Hexane/oxyde d'éthyle, 65/35 en volume  
pour les acides gras libres (R<sub>f</sub> = 0,50) (AGL)  
les diglycérides 1-3 (R<sub>f</sub> = 0,32) (Di 1-3)  
les triglycérides 1-2 (R<sub>f</sub> = 0,25) (Di 1-2)

Les pigments restent au dépôt.

— Chloroforme/oxyde d'éthyle, 50/50 en volume  
pour les monoglycérides alpha et  
bêta (R<sub>f</sub> = 0,21) (Mono.)

Les pigments migrent au front.

Le développement du type horizontal a été effectué dans une cuve Vario KS Camag sur une distance de 11,5 cm avec une atmosphère à 72 % d'humidité relative obtenue par l'acide sulfurique à 30 %. Après évaporation du solvant, les chromatogrammes sont révélés par le mélange

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pur/méthanol, 50/50 en volume à 180 °C pendant 10 min.

Dans ces conditions les substances apparaissent sous forme de bandes noires d'une façon très reproductible.

Les bandes sont ensuite évaluées au photodensitomètre par réflexion à l'aide du Scanner Camag à la longueur d'onde optimale de 500 nm. Les photodensitogrammes sont traités par un intégrateur Enica 10 Delsi.

Au préalable des droites étalons ont été tracées avec des étalons purs pour des quantités déposées variant de 0,5 à 5 µg.

On trouve une droite unique d'équation :

$$y = 1,56 x$$

pour toutes les espèces lipidiques y compris les esters de phytostérols.

y représente la densité optique à 500 nm,

x, la quantité de carbone en microgrammes.

Les coefficients de conversion de la masse de carbone en masse de substances sont les suivants :

- Esters de phytostérols : 1,15,
- Esters méthyliques : 1,30,
- Triglycérides : 1,22,
- Acides gras libres : 1,30,
- Diglycérides 1,2 et 1,3 : 1,31,
- Monoglycérides : 1,40.

## 2. — Analyse des acides gras constitutifs des lipides.

Les lipides sont isolés par CCM préparative à l'aide de plaques Merck (20 × 20 cm), suivant les mêmes conditions que précédemment mais les substances sont révélées par la 2',7' dichlorofluorescéine à 0,1 % dans l'éthanol sous irradiation UV.

On peut déposer jusqu'à 10 mg de substance. Naturellement on utilise toujours les substances témoins pour la localisation.

Les bandes sont grattées et la silice introduite sur un petit verre fritté. On fait passer à travers la silice 10 ml de méthanol/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 95/5 en volume. On porte le filtrat, recueilli quantitativement, au reflux pendant 25 min. Au bout de ce temps on ajoute 10 ml d'eau et on extrait les esters par 20 ml d'hexane dans une ampoule à décanter. Nous avons vérifié que l'estérification est quantitative sur toutes les espèces moléculaires. Prélever 15 ml du surnageant puis évaporer à sec et reprendre par de l'hexane de telle sorte que la concentration en soluté soit de 0,2 % environ.

Les esters méthyliques ainsi obtenus sont analysés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) (Girdel 300) sur colonne capillaire en verre de Carbowax 20 M.

Conditions chromatographiques :

- Colonne : longueur : 50 m,  
diamètre intérieur : 0,3 mm,  
épaisseur du film : 0,1 µm ;
- Température d'injection : 275 °C ;
- Température du four : 180 °C ;
- Température du détecteur : 275 °C ;
- Débit de la colonne : 3 ml/min. ;
- Division à l'injecteur : 1/60° ;
- Gaz vecteur hélium ; 1,6 bar à l'entrée.

L'appareil de chromatographie est équipé d'un intégrateur calculeur Icap 10 Delsi.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

### Etude de l'extraction des lipides totaux.

L'étude de la répétabilité de l'extraction des lipides sur 25 échantillons a donné les résultats consignés dans le tableau I.

On trouve une moyenne de 2,61 % de lipides totaux par rapport au matériel végétal frais.

L'écart type est de 0,12 et la variabilité de 4,56 %. Compte tenu des nombreuses manipulations on doit considérer ces chiffres comme satisfaisants.

### Evaluation des fractions lipidiques.

Le fractionnement des lipides totaux en lipides neutres, glycolipides et phospholipides a donné des résultats acceptables comme le montre le tableau I. Toutefois on notera que plus la fraction est polaire moins les résultats sont répétables. On a attribué ce phénomène à la variation de la teneur en eau de la silice utilisée dans la colonne de fractionnement, facteur difficilement maîtrisable. Etant donné que nous étudions seulement la fraction « lipides neutres » pour laquelle la répétabilité est convenable, nous avons adopté définitivement la méthodologie décrite dans la partie expérimentale.

TABLEAU I. — Répétabilité de l'extraction des lipides totaux et du fractionnement de ces derniers

Types de lipides	Moyennes	Ecart types	Variabilités
Lipides totaux . . . . .	2,61 (1)	0,12	4,56
Lipides neutres . . . . .	39,52 (2)	5,42	13,70
Glycolipides . . . . .	42,37 (2)	7,78	18,40
Phospholipides . . . . .	14,74 (2)	4,66	31,60

(1) En pourcentage pondéral par rapport au matériel végétal frais.

(2) En pourcentage pondéral par rapport aux lipides totaux.

### Fractionnement et quantification des lipides neutres par CCM.

L'utilisation de plaques prêtes pour l'emploi (dont l'humidité de la couche est parfaitement contrôlée grâce au plateau de conditionnement contenant de l'acide sulfurique à 30 % en poids assurant une humidité relative de l'atmosphère de 72 %) a permis d'obtenir une répétabilité des R<sub>f</sub> bien supérieure à celle observée en cuve conventionnelle. Le dépôt en bande effectué automatiquement à l'aide d'un déposeur pneumatique à commande électronique permet d'obtenir une répétabilité remarquable de la géométrie des bandes qui demeurent suffisamment étroites et rectilignes, conditions favorables pour une estimation quantitative.

Le respect scrupuleux du protocole opératoire de carbonisation sulfurique contribue également largement à la répétabilité des densités optiques : dispersion homogène du réactif de révélation pendant une durée constante, temps et température de révélation constants notamment.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau II. L'examen des chiffres de ce tableau nous montre d'une

**TABEAU II. — Evaluation quantitative par photodensitométrie des CCM analytiques des différentes espèces moléculaires de lipides présents dans la fraction « lipides neutres »**

Espèces moléculaires .....	Mono	Di 1-2	Di 1-3	AGL	Tri	EM	EPS
% pondéral par rapport aux lipides neutres (1) .....	13,1	14,7	14,0	12,4	17,1	17,0	11,7
Ecart type .....	0,026	0,069	0	0,040	0,005	0,163	0,126
Variabilité (%) .....	1,54	3,70	0	2,65	0,24	7,51	8,79

(1) Moyenne de 15 déterminations.

part que la méthode photodensitométrique est répétable et que tous les lipides sont finalement en quantité quasiment équivalente voisine de 11 à 17 % environ par rapport aux lipides neutres totaux.

Les figures 1 et 2 donnent un exemple de CCM des 7 espèces moléculaires, accompagné du photodensitogramme correspondant.

#### Détermination de la composition en acides gras de chaque espèce moléculaire.

La composition en acides gras a été déterminée après transestérification suivant la méthode décrite dans la partie expérimentale [39, 40, 41, 42].

Les chromatogrammes de chaque fraction sont tous similaires et font toujours apparaître les mêmes acides gras principaux, seules les proportions relatives de ces derniers sont différentes comme le montre le tableau III.

On constate immédiatement que les valeurs trouvées pour les quatre acides gras sélectionnés sont souvent du même ordre de grandeur pour chaque type d'acide gras.

Il est à noter que dans la colonne « autres », les valeurs qui y figurent correspondent en général à des pics dont l'importance est inférieure à 1 %.

**TABEAU III. — Analyse des acides gras des différentes espèces moléculaires identifiées dans la fraction « lipides neutres »**

Ces valeurs sont la moyenne de 25 échantillons de l'arbre étudié.

Espèces moléculaires	Acides gras				
	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	Autres
Mono .....	41,2	8,8	30,0	11,9	8,1
Di 1-2 .....	33,6	11,0	41,9	4,2	9,3
Di 1-3 .....	32,1	14,4	46,1	2,2	5,2
AGL .....	34,3	10,5	47,2	5,5	2,5
Tri .....	21,9	4,7	29,6	11,7	32,1
EM .....	41,9	6,6	17,4	12,5	21,6
EPS .....	31,5	7,6	35,6	15,1	10,2
Huile d'hybride (moyenne de 11 arbres) .....	30,9	3,7	51,0	12,8	1,6

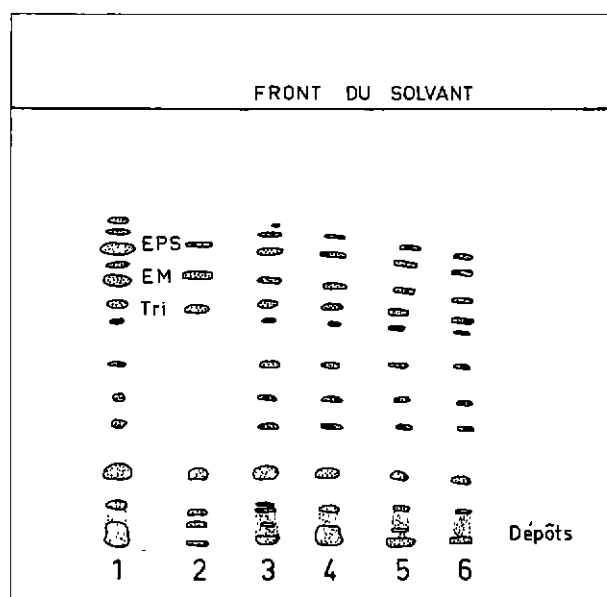


FIG. 1a. — CCM des lipides neutres (1, 3, 4, 5, 6-100 µg d'extrait foliaire ; 2-LN étalon).

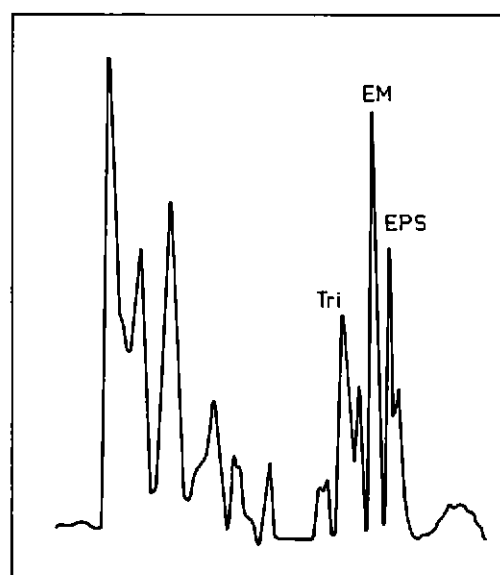


FIG. 2a. — Photodensitogramme des Tri, EM, EPS.

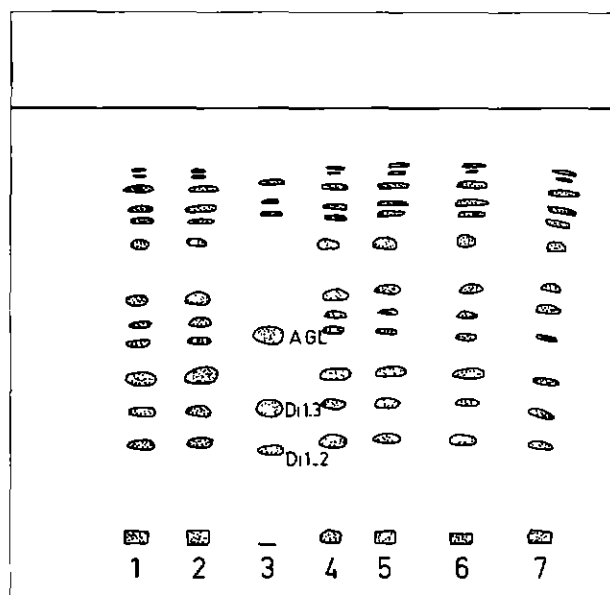


FIG. 1b. — CCM des lipides neutres  
(1, 2, 4, 5, 6, 7-100 µg d'extrait foliaire, 3-LN étalon).

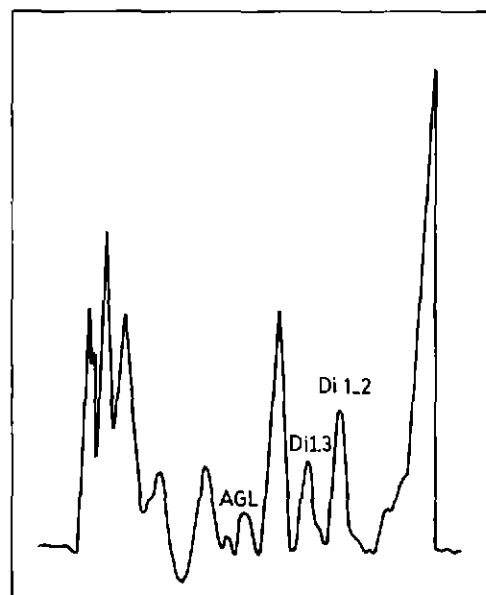


FIG. 2b. — Photodensitogramme des Di 1-2, Di 1-3, AGL.

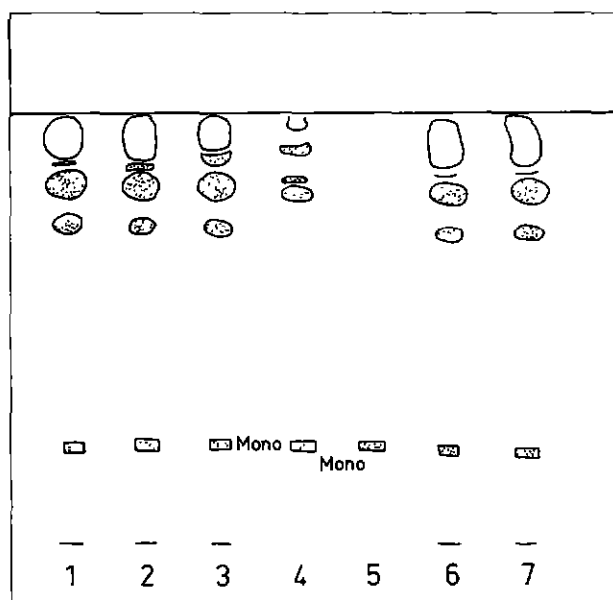


FIG. 1c. — CCM des lipides neutres-séparation MG/pigments foliaires  
(1, 2, 3, 6, 7-100 µg d'extrait foliaire ; 4-LN étalon ; 5-Mono pur).

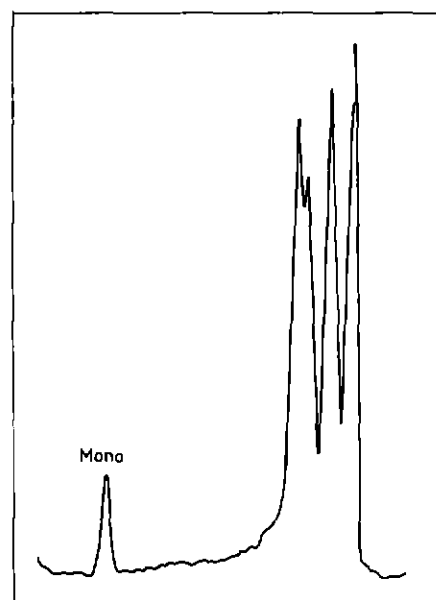


FIG. 2c. — Photodensitogramme des Mono

Sur la figure 3 on donne un exemple de séparation par CPG.

Il nous a semblé intéressant de ramener les pourcentages relatifs uniquement par rapport aux quatre acides gras considérés (Tabl. IV). On constate que cette transformation rapproche certaines valeurs de celles de l'huile de palme de l'arbre étudié. Notamment la composition en acides gras des triglycérides est la plus proche de celle de l'huile. La similitude entre cette espèce moléculaire et l'huile est encore accrue si l'on compare uniquement la somme des acides gras saturés et la somme des acides gras insaturés.

FIG. 3. — Chromatogramme de la fraction « acides gras libres ».  
VAC = acide vaccénique.

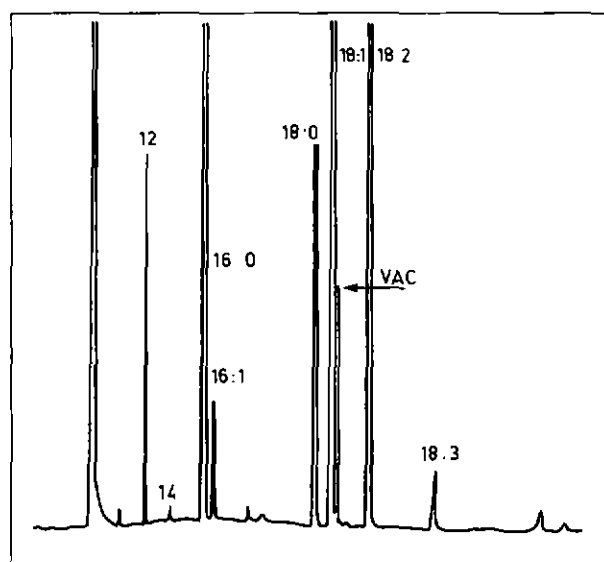




TABLEAU IV. — Comparaison des compositions en acides gras en ne tenant compte que des acides principaux

Espèces moléculaires	Acides gras						
	Saturés		S =	Insaturés		I =	I/S
	C16:0	C18:0	C16:0 + C18:0	C18:1	C18:2	C18:1 + C18:2	
Mono .....	44,8	9,6	54,4	32,6	13,0	45,0	0,83
Di 1-2 .....	37,1	12,1	49,2	46,2	4,6	50,8	1,03
Di 1-3 .....	33,8	15,2	49,0	48,7	2,3	51,0	1,04
AGL .....	35,2	10,8	46,0	48,4	5,6	54,0	1,17
Tri .....	32,3	6,9	39,2	43,6	17,2	60,8	1,55
EM .....	53,4	8,4	61,8	22,2	16,0	38,2	0,62
EPS .....	35,1	8,5	43,6	39,6	16,8	56,4	1,29
Huile de palme de l'hybride <i>E. melano-</i> <i>nococca</i> × <i>E. guineensis</i> .....	31,4	3,8	35,2	51,8	13,0	64,8	1,84

Si l'on considère maintenant le rapport acides gras insaturés sur acides gras saturés, on constate encore que ce sont les triglycérides qui se rapprochent le plus de l'huile (1,55 pour 1,84) alors que pour les autres espèces on s'éloigne considérablement de la valeur 1,84.

En ce qui concerne les esters méthyliques que nous avons mis en évidence dans la fraction lipides neutres, nous ne pouvons pas nous prononcer actuellement, et dire si cette espèce moléculaire est naturelle ou un artefact dû au conditionnement des échantillons dans le méthanol.

Deux arguments semblent militer dans le sens de l'existence naturelle de ces esters méthyliques :

— des esters méthyliques ont été mis en évidence dans la feuille de tabac [17]. Ce sont le myristate de méthyle et le palmitate de méthyle. Le palmitate d'éthyle a d'ailleurs été également mis en évidence dans les lipides foliaires de cette plante.

Il faut noter que les auteurs ont extrait les lipides par une méthode ne mettant pas en jeu ni le méthanol ni l'éthanol. Seul le pentane a été utilisé ;

— un deuxième argument est le fait que dans les esters méthyliques que nous avons identifiés, une quantité appré-

ciable d'heptadécanoate de méthyle (C17:0) est présente ; or, cet acide gras impair est inexistant ou seulement présent à l'état de trace dans les autres espèces moléculaires. Bien entendu ce point devra être vérifié.

## CONCLUSION

Dans le présent travail nous avons principalement montré qu'un protocole répétable relativement simple permet d'avoir accès assez rapidement aux acides gras constitutifs des différentes espèces moléculaires mises en évidence dans la fraction lipides neutres des lipides foliaires totaux du palmier à huile et ceci sur un seul arbre adulte.

Il conviendra prochainement de refaire une série d'analyses sur le même arbre pour vérifier la reproductibilité de la méthode puis de répéter l'expérience sur un certain nombre d'arbres d'une même lignée et sur d'autres lignées d'espèces bien différentes (parents, hybrides, etc.). Un traitement mathématique nous permettra alors d'établir la relation recherchée.

Cette relation sera ensuite testée sur un grand nombre de plantules d'un an pour en vérifier son domaine de validité.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] WINTERMANS J. F. G. M. — « Concentrations of phosphatides and glycolipids in leaves and chloroplasts ». *Biochem. Biophys. Acta*, (1960), **44**, 49-54.
- [2] ZILL L. P. and HARMON E. A. — « Lipids of photosynthetic tissue. Silicic acid chromatography of the lipids from whole leaves and chloroplasts ». *Biochem. Biophys. Acta*, (1962), **57**, 573-583.
- [3] NICHOLS B. W. — « Separation of the lipids of photosynthetic tissues : Improvements in analysis by thin layer chromatography ». *Biochem. Biophys. Acta*, (1963), **70**, 417-422.
- [4] ALLEN C. F., GOOD P., DAVIS H. F., CHISUM P. and FOWLER D. — « Methodology for the separation of plant lipids and application to spinach leaf and chloroplast lamellae ». *J. Am. Oil Chem. Soc.*, (1966), **3**, 223-231.
- [5] HAVERKATES F. and VAN DEENEN L. L. M. — « Isolation and chemical characterization of phosphatidyl glycerol from spinach leaves ». *Biochem. Biophys. Acta*, (1965), **106**, 78-92.
- [6] HOLLOWAY P. J. — « Intracellular lipids of spinach leaves ». *Phytochemistry*, (1974), **13**, 2201-2207.
- [7] KATES M. and EBERHARDT F. M. — « Isolation and fractionation of leaf phosphatides ». *Can. J. Botany*, (1957), **35**, 895-905.
- [8] SASTRY P. S. and KATES M. — « Lipid components of leaves : V. Galactolipids, cerebrosides and lecithin of runner-bean leaves ». *Biochem.*, (1964), **3**, 1271-1280.
- [9] MAXWELL M. A. B. and WILLIAMS J. P. — « Separation and estimation of the galactolipid components of broad bean leaves ». *J. Chromatogr.*, (1968), **35**, 223-229.
- [10] WEENINCK R. O. — « Minor constituents of the acetone-soluble lipids of red-clover (*Trifolium pratense*) leaves ». *Biochem. J.*, (1962), **82**, 523-527.
- [11] ROUGHAN P. G. and BATT R. D. — « The glycerolipid composition of leaves ». *Phytochemistry*, (1969), **8**, 363-369.
- [12] TRÉMOLIÈRES A. — « Formation de l'acide linoléique dans les chloroplastes ». Thèse de 3<sup>e</sup> cycle, Reims, Fr., 1969.
- [13] TRÉMOLIÈRES A. and MAZLIAK P. — « Formation of lipids during the development of the clover leaf (*Trifolium repens*). Effect of illumination ». *Physiol. vég.*, (1970), **8**, 135-150.
- [14] BODY D. R. — « Neutral lipids of leaves and stems of *Trifolium repens*. *Phytochemistry*, (1974), **13**, 1527-1530.
- [15] JAMES A. T. and NICHOLS B. W. — « Lipids of photosynthetic systems ». *Nature*, (1966), **210**, 372-375.
- [16] CHU H. and TSO T. S. — « Fatty acid composition in tobacco. I. Green tobacco plants ». *Plant Physiol.*, (1968), **43**, 428-433.
- [17] KIMLAND B., APPLETON R. A., AASEN A. J., ROE RAADE J. and ENZELL C. R. — « Neutral oxygen — containing volatile constituents of Greek tobacco ». *Phytochemistry*, (1972), **11**, 309-316.

- [18] SCHLOTZHAUER P. F., ELLINGTON J. J. and SCHEPARTZ A. I. — « Thin layer chromatographic procedure for class separation of plant neutral lipids ». *Lipids*, (1976), **12** (2), 239-241.
- [19] STUMPF P. R. and JAMES A. T. — « The biosynthesis of long-chain fatty acids by lettuce chloroplast preparations ». *Biochem. Biophys. Acta*, (1963), **70**, 20-32.
- [20] KOLATTUKUDY P. E. — « Composition of the surface lipids of pea leaves (*Pisum sativum*) ». *Lipids*, (1970), **5**, 398-402.
- [21] ASTIER T. — « Les lipides des chloroplastes et des mitochondries de la feuille de lierre (*Hedera helix*) ». Thèse 3<sup>e</sup> cycle, Bordeaux, Fr., (1971).
- [22] JAMIESON G. R. and REID E. H. — « The leaf lipids of some members of the Caryophyllaceae ». *Phytochemistry*, (1971), **10**, 1575-1577.
- [23] JAMIESON G. R. and REID E. H. — « The leaf lipids of some conifer-G species ». *Phytochemistry*, (1972), **11**, 269-275.
- [24] WHEELDON L. W. — « Composition of cabbage leaf phospholipids ». *J. Lipid Res.*, (1960), **1**, 438-445.
- [25] VORBECK M. L., ALBURY M. M., MATTICK L. R., LEE R. A. and PEDERSON C. S. — « Lipid alterations during the fermentation of vegetables by lactic acid bacteria ». *J. Food Sci.*, (1963), **28**, 495-502.
- [26] LASETER J. L., WEBER D. J. et ORO J. — « Characterization of cabbage leaf lipids: n-alkanes, ketone, and fatty acids ». *Phytochemistry*, (1968), **7**, 1005-1008.
- [27] PENG A. C. — « Composition of the lipids in cabbage ». *Lipids*, (1974), **9**, 299-301.
- [28] RALPH T. HOLMAN and NICHOLS P. C. — « Characterization of the lipids of some orchids ». *Phytochemistry*, (1972), **11**, 333-337.
- [29] MIERNYK J. A. — « Phospholipid composition of sunflower chloroplasts ». *Plant Physiol.*, (1977), **59**, 32.
- [30] KHOR H. T. — « Removal of chlorophyll pigments from plant neutral lipids ». *J. Chromatogr.*, (1979), **179**, 225-226.
- [31] KHOR H. T. and TAN H. L. — « The lipids of young cassava (*Manihot esculenta*) leaves ». *J. Sci. Food Agric.*, (1981), **32**, 399-402.
- [32] ROUGHAN P. G., SLACK C. R. and HOLLAND R. — « Generation of phospholipid artefacts during extraction of developing soybean seeds with methanolic solvents ». *Lipids*, (1978), **13**, 497-503.
- [33] EZZAT K. S. and PEARCE R. S. — « Fatty acids of lipids from cultured soybean and rape cells ». *Phytochemistry*, 1980, **19**, 1375-1378.
- [34] MOBASHSHER-UDDIN KHAN and WILLIAMS J. P. — « Improved thin-layer chromatographic method for the separation of major phospholipids and glycolipids from plant lipid extracts and phosphatidyl glycerol and bis (monoacylglyceryl) phosphate from animal lipid extracts ». *J. Chromatogr.*, (1977), **140**, 179-185.
- [35] VON DIEPENBROCK W. — « Zur Umweltvariabilität der Fettsäure-Zusammensetzung von Galaktolipiden in Rapsblättern ». *Fette Seifen Anstrichm.*, (1981), **83**, 297-302.
- [36] VON DIEPENBROCK W. — « Comparative investigation on the fatty acids composition of galactolipids from leaves and seeds of rape plants ». *Fette Seifen Anstrichm.*, (1982), **84**, 373-376.
- [37] TRÉMOLIÈRES A. — « Lipides des tissus photosynthétiques ». *Ann. Biol.*, Fasc. 3-4, (1970), **2**, 146-151.
- [38] MARTIN G. — « Préparation et conditionnement des échantillons pour diagnostics foliaires du palmier à huile et du cocotier ». *Oléagineux*, (1975), **30**, 9-11.
- [39] KOIWA A. and KISAKI T. — « Changes in glycolipids and phospholipids of tobacco leaves during flue-curing ». *Agric. Biol. Chem.*, (1979), **43**, 597-602.
- [40] KOIWA A., SUZUKI F., MATSUZAKI T. and KAWASHIMA N. — « Changes in glycerolipids and their fatty acid composition during maturation of tobacco seeds ». *Phytochemistry*, (1982), **21**, 305-308.
- [41] Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (IUPAC) Méthode d'Analyse des Matières Grasses et Dérivées, 6<sup>e</sup> Ed., 1<sup>re</sup> Partie (Sections I et II). Edité pour l'Institut des Corps Gras par E.T.I.G., 1979. « Détermination de la teneur en acides gras en position 2 dans les triglycérides », (1979), Méthode 2-210, 1-6. Référence IUPAC (5<sup>e</sup> Ed., 1978, Méthode II D 27).
- [42] BOWYER D. E., LEAT W. M. F., HOWARD A. N. and GRESHAM G. A. — « The determination of the fatty acid composition of serum lipids separated by thin-layer chromatography and a comparison with column chromatography ». *Biochim. Biophys. Acta*, (1963), **70**, 423-431.

## SUMMARY

Study of leaf lipids of an oil palm, *E. melanococca* × *E. guineensis*.

J. GRAILLE, E. BIAN N'ZIE, M. PINA, C. FRATER and B. KOUAMÉ, *Oléagineux*, 1983, **38**, N° 3, p. 193-199.

The oil palm takes a fairly long time to grow from a seedling to a bearing tree, consequently it would be interesting to define a mathematical relationship between the fatty acid composition of one or more molecular species of the reserve lipids contained in its leaves and that of the fatty acid components of the oil of the bearing tree. It would then be possible, by simple analysis of a leaf aliquot, to foresee the composition of the tree's oil. Even if the relationship is verified in only 70 % of cases, this test would allow plant breeders to eliminate a certain number of undesirable seedlings in the nursery. Breeders and geneticists would gain precious time in this way. The authors started by defining a reproducible, repeatable method for extracting total lipids, their fractionating by various chromatographic techniques, their quantitative separation, and finally the analysis of the constituent fatty acids of the lipidic species separated.

## RESUMEN

Estudio de los lípidos foliares de una palma aceitera *E. melanococca* × *E. guineensis*.

J. GRAILLE, E. BIAN N'ZIE, M. PINA, C. FRATER y B. KOUAMÉ, *Oléagineux*, 1983, **38**, N° 3, p. 193-199

En la palma aceitera transcurre un plazo relativamente largo entre la joven plántula y el árbol en producción. Como consecuencia de ello, sería interesante definir una relación matemática entre la composición de ácidos grasos de una o varias especies moleculares de los lípidos de reserva contenidas en las hojas de palma aceitera, y la de ácidos grasos constitutivos del aceite de palma del árbol en producción. Así que mediante un simple análisis de una parte alícuota foliar, sería posible prever la composición del aceite del árbol en producción. Esta prueba permitiría a los fitomejoradores eliminar en el semillero cierto número de plántulas indeseables, hasta si la relación sólo se verifica en un 70 % de los casos. Así los fitomejoradores y genetistas ganarían un tiempo valioso. En una primera etapa los autores han definido primero un método de extracción de los lípidos totales que puede ser reproducido y repetido, de su fraccionamiento por diversas técnicas de cromatografía, de separación cuantitativa y por último de análisis de los ácidos grasos constitutivos de las especies lipídicas distintas.